

入 ICU 首日有核红细胞 $\geq 1\%$ 是脓毒症患者 28 d 病死率的危险因素

陈昊然¹ 颜瑶² 唐心怡³ 薛皓月⁴ 李小民³ 谢永鹏⁴

¹南京医科大学康达学院临床医学部, 连云港 222000; ²连云港市第一人民医院重症监护医学科, 连云港 222000; ³南京医科大学连云港临床学院急诊和重症监护医学科, 连云港 222000;

⁴徐州医科大学连云港临床学院急诊科, 连云港 222000

通信作者: 谢永鹏, Email: xyp8285@njmu.edu.cn

【摘要】 目的 分析入重症监护病房 (ICU) 首日有核红细胞 (NRBC) 水平与成人脓毒症患者 28 d 病死率之间的相关性, 评价 NRBC 作为死亡独立预测因子的价值。 **方法** 利用基因表达综合数据库中 GSE167363 数据集 (包含 2 例健康者、3 例存活脓毒症患者和 2 例死亡脓毒症患者) 进行单细胞转录组学分析。基于美国重症监护医学信息数据库 IV (MIMIC-IV) 进行回顾性分析, 纳入首次入院且符合 Sepsis-3 诊断标准的成人脓毒症患者, 排除入 ICU 首日无 NRBC 检测结果者。收集患者入院首日人口统计学信息、生命体征、实验室检测指标、疾病严重程度评分及生存数据。使用限制性立方样条 (RCS) 曲线确认 NRBC 预测 28 d 死亡的最佳截断值, 并根据 NRBC 最佳截断值将患者分为低风险组和高风险组进行组间比较, 同时进行 Kaplan-Meier 生存曲线分析。采用 Logistic 和 Cox 回归分析 28 d 死亡的独立危险因素, 并构建回归模型。 **结果** 单细胞转录组学显示, 在预后不良的脓毒症患者外周血中检测到 NRBC。临床分析纳入 1 291 例脓毒症患者, 28 d 死亡 576 例, 28 d 病死率为 44.6%。RCS 曲线显示, 首日 NRBC 水平与脓毒症患者 28 d 病死率之间存在非线性关系, 当 NRBC $\geq 1\%$ 时, 患者 28 d 死亡风险显著增加。与低风险组 (NRBC $< 1\%$) 相比, 高风险组 (NRBC $\geq 1\%$) 患者呼吸频率、心率、序贯器官衰竭评分 (SOFA) 和简化急性生理学评分 II (SAPS II) 显著增高, 血细胞比容和血小板计数显著降低, 最重要的是, 高风险组 28 d 病死率显著增加 [49.8% (410/824) 比 35.5% (166/467), $P < 0.05$], 中位生存时间显著缩短 (d: 29.8 比 208.6, $P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存曲线显示, 与低风险组相比, 高风险组患者生存时间显著缩短 (Log-rank 检验: $\chi^2 = 25.1$, $P < 0.001$)。多因素回归分析显示, 在调整体质量、体温、心率、呼吸频率、平均动脉压、血肌酐、脉搏血氧饱和度、血红蛋白、血细胞比容、 Na^+ 、 K^+ 、血小板计数、SOFA 评分等潜在混杂因素后, NRBC $\geq 1\%$ 是脓毒症患者 28 d 死亡的独立危险因素 [Logistic 回归分析: 优势比 (OR) = 1.464, 95% 置信区间 (95%CI) 为 1.126 ~ 1.902, $P = 0.004$; Cox 回归分析: 风险比 (HR) = 1.268, 95%CI 为 1.050 ~ 1.531, $P = 0.013$]。 **结论** 入 ICU 首日 NRBC $\geq 1\%$ 是脓毒症患者 28 d 死亡的独立危险因素, 可作为早期预后评估的实用指标。

【关键词】 脓毒症; 有核红细胞; 单细胞 RNA 测序; 重症监护; 病死率

基金项目: 江苏省科技项目 (BE2020670); 江苏省连云港市卫生科技项目 (202301)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20241107-00915

Nucleated red blood cells $\geq 1\%$ on the first day of intensive care unit admission is a risk factor for 28-day mortality in patients with sepsis

Chen Haoran¹, Yan Yao², Tang Xinyi³, Xue Haoyue⁴, Li Xiaomin³, Xie Yongpeng⁴

¹School of Medicine, Kangda College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222000, China; ²Department of Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Lianyungang City, Lianyungang 222000, China; ³Department of Emergency and Critical Care Medicine, Lianyungang Clinical College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222000, China; ⁴Department of Emergency, Lianyungang Clinical College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222000, China

Corresponding author: Xie Yongpeng, Email: xyp8285@njmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between nucleated red blood cell (NRBC) level on the first day of intensive care unit (ICU) admission and 28-day mortality in adult septic patients, and to evaluate the value of NRBC as an independent predictor of death. **Methods** Single-cell transcriptomic analysis was performed using the GSE167363 dataset from the Gene Expression Omnibus (including 2 healthy controls, 3 surviving septic patients, and 2 non-surviving septic patients). A retrospective clinical analysis was conducted using the America Medical Information Mart for Intensive Care-IV (MIMIC-IV) database, including adult patients (≥ 18 years) with first-time admission who met the Sepsis-3.0 criteria, excluding those without NRBC testing on the first ICU day. The demographic information, vital signs, laboratory test indicators, disease severity score and survival data on the first day of admission were collected. The restricted cubic spline (RCS) curve was used to determine the optimal cut-off value of NRBC for predicting 28-day mortality in patients. Patients were divided into low-risk and high-risk groups based on this cut-off value for intergroup comparison, with Kaplan-Meier survival curve analysis conducted. Independent risk factors for 28-day mortality

were analyzed using Logistic regression and Cox regression analysis, followed by the construction of regression models. **Results** NRBC were detected in the peripheral blood of septic patients by single-cell transcriptomic. A total of 1 291 sepsis patients were included in the clinical analysis, with 576 deaths within 28 days, corresponding to a 28-day mortality of 44.6%. RCS curve analysis showed a nonlinear relationship between the first-day NRBC level and the 28-day mortality. When $\text{NRBC} \geq 1\%$, the 28-day mortality of patients increased significantly. Compared to the low-risk group ($\text{NRBC} < 1\%$), the high-risk group ($\text{NRBC} \geq 1\%$) had significantly higher respiratory rate, heart rate, sequential organ failure assessment (SOFA), and simplified acute physiology score II (SAPS II), and significantly lower hematocrit and platelet count. The high-risk group also had a significantly higher 28-day mortality [49.8% (410/824) vs. 35.5% (166/467), $P < 0.05$], and shorter median survival time (days: 29.8 vs. 208.6, $P < 0.05$). Kaplan-Meier survival curve showed that compared with the low-risk group, the survival time of high-risk group was significantly shortened (Log-rank test: $\chi^2 = 25.1$, $P < 0.001$). After adjusting for potential confounding factors including body mass, temperature, heart rate, respiratory rate, mean arterial pressure, serum creatinine, pulse oximetry saturation, hemoglobin, hematocrit, Na^+ , K^+ , platelet count, and SOFA score, multivariate regression analysis confirmed that $\text{NRBC} \geq 1\%$ was an independent risk factor for 28-day mortality [Logistic regression: odds ratio (OR) = 1.464, 95% confidence interval (95%CI) was 1.126–1.902, $P = 0.004$; Cox regression: hazard ratio (HR) = 1.268, 95%CI was 1.050–1.531, $P = 0.013$]. **Conclusion** $\text{NRBC} \geq 1\%$ on the first day of ICU admission is an independent risk factor for 28-day mortality in septic patients and can serve as a practical indicator for early prognostic assessment.

【Key words】 Sepsis; Nucleated red blood cell; Single-cell RNA sequencing; Critical care; Mortality

Fund program: Jiangsu Provincial Science and Technology Project of China (BE2020670); Health Science and Technology Project of Lianyungang City of Jiangsu Province of China (202301)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20241107-00915

成人外周血中出现有核红细胞(nucleated red blood cell, NRBC)是一种罕见现象,通常与红细胞生成异常相关。作为成熟红细胞的未成熟阶段, NRBC 的存在可能暗示贫血、严重缺氧或恶性肿瘤等病理状态,并与不良预后相关^[1-2]。尽管 NRBC 的检测相对简便且成本效益高,但其在临床诊断和治疗中的价值,尤其是在贫血和血液疾病的诊治之外,尚未得到充分认可^[3]。

脓毒症是一种由感染引发的免疫反应失调,可导致危及生命的器官功能障碍,是全球医疗保健领域的一大挑战。在重症监护病房(intensive care unit, ICU)中,脓毒症发病率和病死率居高不下^[4-5]。考虑到感染会导致脓毒症患者体内存在一系列炎症损伤和缺氧,而 NRBC 作为一种潜在的炎症和缺氧生物标志物,在脓毒症中具有重要的研究意义。既往研究表明, NRBC 的出现及其水平升高与患者死亡风险增加密切相关^[5-14]。然而, NRBC 在预测脓毒症患者预后中的具体作用尚未得到充分研究。

本研究通过分析基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中的单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-Seq)数据,以及回顾美国重症监护医学信息数据库Ⅳ(Medical Information Mart of Intensive Care-Ⅳ, MIMIC-Ⅳ; 版本 2.2)中的大规模数据,旨在探讨入 ICU 首日 NRBC 水平与脓毒症患者 28 d 病死率之间的相关性,以评估 NRBC 作为 ICU 脓毒症患者死亡独立危险因素对预后的早期预测能力。

1 资料与方法

1.1 单细胞转录组学分析

1.1.1 数据来源:从 GEO 数据库中提取 scRNA-Seq 数据(登录号: GSE167363),组学数据集中脓毒症患者均为革兰阴性菌引起的感染,用 Illumina NovaSeq 6000 仪器模型进行测序,基因组根据 GRCh38 构建。

1.1.2 单细胞数据分析方法:在 R 4.3.2 软件中使用 Seurat 包(版本 5.0.1)对原始矩阵进行归一化^[15]。选择 2 000 个最具变异性的基因后,通过主成分分析(principal component analysis, PCA)确定 40 个最佳的主成分。聚类后通过均匀流形近似和投影(uniform manifold approximation and projection, UMAP)进行可视化。通过已知的细胞特异性标志物鉴定不同的细胞类型,其中 NRBC 的特异性细胞标志物为 α 血红蛋白稳定蛋白基因(alpha hemoglobin stabilizing protein, AHSP)、5'-氨基乙酰丙酸合酶 2 基因(5'-aminolevulinate synthase 2, ALAS2)和碳酸酐酶 1 基因(carbonic anhydrase 1, CA1)^[16]。

1.2 MIMIC-Ⅳ数据库数据分析

1.2.1 数据来源与伦理:MIMIC-Ⅳ数据库包含了 2008 至 2019 年在贝斯以色列女执事医疗中心 ICU 收治的患者数据。该数据库由麻省理工学院的计算生理学实验室开发,已得到麻省理工学院和贝斯以色列女执事医疗中心机构审查委员会的授权。本课题组已完成保护人类研究参与者项目认证,研究人员已获得许可证并被允许使用该数据库(许可证号: 62591779),并经过医院伦理委员会审批(审批号:

LW-20241206001-01)。

1.2.2 纳排标准：从 MIMIC-IV 数据库中纳入年龄 ≥ 18 岁、住 ICU 期间被诊断为脓毒症的患者^[17]；排除非首次入院、入 ICU 首日没有 NRBC 检测结果的患者。

1.3 数据收集：① 对于 scRNA-Seq 数据，从 GEO 数据库下载 .mtx 格式的原始数据，并在 R 软件中使用 Matrix 包 (版本 1.5-3) 转换为稀疏矩阵进行进一步分析。② 对于 MIMIC-IV 数据库临床数据，用结构化查询语言提取患者入院 24 h 内的信息，包括人口统计学信息、生命体征、实验室检测指标、生存数据和疾病严重程度评分。其中 NRBC、序贯器官衰竭评分 (sequential organ failure assessment, SOFA)、简化急性生理学评分 II (simplified acute physiology score II, SAPS II) 取患者入 ICU 首日的最大值；平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP) = $[(2 \times \text{舒张压}) + \text{收缩压}] / 3$ 。主要临床结局为患者入 ICU 后 28 d 病死率。排除缺失率 $\geq 30\%$ 的变量以减少缺失数据引起的偏差；使用 5 重插补法处理缺失率 $< 30\%$ 的变量，包括体质量、血肌酐 (serum creatinine, SCr)、体温、脉搏血氧饱和度 (peripheral capillary oxygen saturation, SpO₂)、血红蛋白 (hemoglobin, Hb)、血细胞比容 (hematocrit, Hct)、K⁺ 和 Na⁺^[18]。

1.4 统计学方法：采用 R 4.4.3、SPSS 26.0 以及 GPower 3.1.9.7 软件分析数据。使用限制性立方样条 (restricted cubic spline, RCS) 曲线确认 NRBC 预测脓毒症患者 28 d 死亡的最佳截断值，评估入 ICU 首日 NRBC 对 28 d 死亡风险的潜在影响，并根据风险比 (hazard ratio, HR) 为 1 所对应的 NRBC 水平将患者分为高风险组和低风险组进行比较分析。其中分类变量，使用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验评估组间差异；对于连续变量，若符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，用两独立样本 t 检验评估组间差异；若不符合正态分布以中位数 (四分位数) [$M(Q_1, Q_3)$] 表示，采用 Mann-Whitney U 检验评估组间差异。此外，绘制两组患者 28 d Kaplan-Meier 生存曲线。

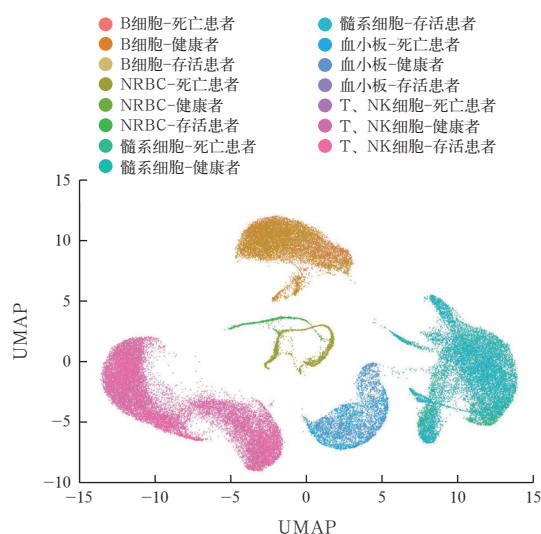
采用 Logistic 回归和 Cox 回归分析脓毒症患者 28 d 死亡影响因素，用方差膨胀因子 (< 5) 和逐步逆向选择 ($P < 0.1$) 进行多变量分析，确定影响 28 d 病死率的独立预测因素，采用 Hosmer-Lemeshow 检验衡量模型的拟合优度，并建立 Logistic 回归模型和 Cox 回归模型。为了确定变量之间的修改和交互作用，对年龄、性别、体质量和 SOFA 评分进行亚组

和交互作用分析。检验水准 α 值取双侧 0.05。

分析完成后，使用 GPower 3.1.9.7 软件计算最小样本量 (效应量 $g = 0.06$, $\alpha = 0.05$, $Power = 0.95$) 为 902。本研究经排纳后最终纳入分析的样本量超过最小样本量时结果可信。

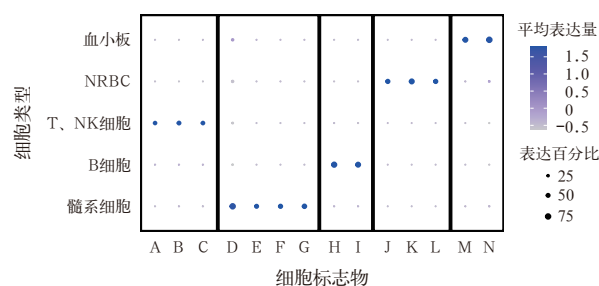
2 结果

2.1 scRNA-Seq 分析结果：数据集 GSE167363 包括 3 类捐献者 (2 例健康者，3 例最终存活的脓毒症患者，2 例最终死亡的脓毒症患者) 的外周血样本。通过无监督分析，并根据已知细胞标志物的表达水平排除双细胞簇和未知细胞簇后，鉴定出来自 3 类捐献者的 T 细胞、自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞)、B 细胞、血小板和 NRBC (图 1 ~ 2)。NRBC 仅出现在脓毒症患者的外周血中 (图 1)。



注：UMAP 为均匀流形近似和投影，NRBC 为有核红细胞，NK 细胞为自然杀伤细胞

图 1 确定死亡与存活脓毒症患者及健康者捐献外周血样本中细胞类型的 UMAP



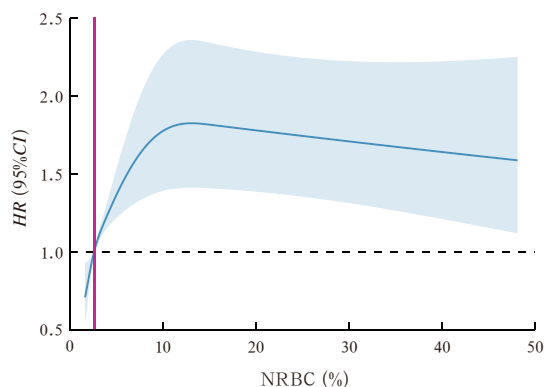
注：A 为 CD3d 分子，B 为白细胞介素-32，C 为白细胞介素-7 受体，D 为 S100 钙结合蛋白 A9，E 为 CD14 分子，F 为多功能蛋白聚糖，G 为纤维胶凝蛋白-1，H 为 CD79a 分子，I 为免疫球蛋白重链 mu，J 为 α 血红蛋白稳定蛋白基因，K 为 5'-氨基乙酰丙酮酶 2 基因，L 为碳酸酐酶 1 基因，M 为糖蛋白 IX，N 为血小板因子 4，NRBC 为有核红细胞，NK 细胞为自然杀伤细胞

图 2 使用已知的不同细胞类型的细胞标志物鉴定死亡与存活脓毒症患者及健康者捐献外周血样本中的细胞

2.2 MIMIC-IV 队列分析结果

2.2.1 患者基本临床资料(表 1): 66 239 例 ICU 患者中, 最终有 1 291 例脓毒症患者的信息纳入分析。入组患者中男性 703 例, 女性 588 例; 中位年龄 67.1 岁; 中位体质量 80.0 kg; 中位 SOFA 评分为 8 分; 中位 SAPS II 评分为 48 分; 28 d 死亡 576 例, 28 d 病死率为 44.6%。

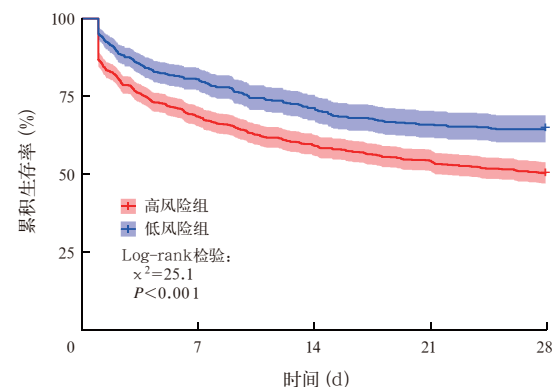
2.2.2 确认 NRBC 最佳截断值(图 3): RCS 曲线显示, 入 ICU 首日 NRBC 与脓毒症患者 28 d 死亡风险呈非线性关系($P < 0.05$)。综合考虑临床使用的便携性后, NRBC 最佳截断值取 1%。当 NRBC $\geq 1\%$ 时, 脓毒症患者 28 d 死亡风险显著增加。



注: ICU 为重症监护病房, NRBC 为有核红细胞, RCS 为限制性立方样条, HR 为风险比, 95%CI 为 95% 置信区间

图 3 入 ICU 首日 NRBC 与脓毒症患者 28 d 死亡风险关系的 RCS 曲线

2.2.3 高风险组与低风险组基本临床资料比较: 纳入 1 291 例脓毒症患者中, NRBC $\geq 1\%$ 的高风险患者 824 例(占 63.8%), NRBC $< 1\%$ 的低风险患者 467 例。与低风险组相比, 高风险组患者呼吸频率(respiratory rate, RR)、心率(heart rate, HR)、SOFA 评分和 SAPS II 评分显著增高, Hct 和血小板计数(platelet count, PLT)显著降低, 最重要的是, 高风险组 28 d 病死率显著增加, 生存时间显著缩短(均 $P < 0.05$; 表 1)。Kaplan-Meier 生存曲线显示(图 4), 高、低风险组患者 28 d 累积生存率差异存在统计学意义, 高风险组患者 28 d 预后更差(Log-rank 检验: $\chi^2 = 25.1$, $P < 0.001$)。



注: 低风险组为入重症监护病房(ICU)首日有核红细胞(NRBC) $< 1\%$, 高风险组为入 ICU 首日 NRBC $\geq 1\%$

图 4 入 ICU 首日不同水平 NRBC 两组脓毒症患者 28 d Kaplan-Meier 生存曲线

表 1 入 ICU 首日不同水平 NRBC 两组脓毒症患者基线特征比较

指标	全体 ($n=1\,291$)	低风险组 ($n=467$)	高风险组 ($n=824$)	Z/χ^2 值	P 值
年龄[岁, $M(Q_1, Q_3)$]	67.1 (56.9, 77.0)	67.4 (57.0, 78.7)	66.9 (56.8, 76.3)	-1.310	0.190
男性[例(%)]	703 (54.5)	252 (54.0)	451 (54.7)	0.072	0.789
体质量[kg, $M(Q_1, Q_3)$]	80.0 (66.5, 97.1)	80.0 (67.9, 98.8)	79.7 (65.5, 96.1)	-1.482	0.138
RR [次/min, $M(Q_1, Q_3)$]	30 (26, 35)	29 (26, 33)	30 (27, 35)	-2.956	0.003
体温[$^{\circ}\text{C}$, $M(Q_1, Q_3)$]	37.2 (36.9, 37.7)	37.2 (36.9, 37.6)	37.2 (36.9, 37.7)	-0.479	0.632
HR [次/min, $M(Q_1, Q_3)$]	113.0 (96.0, 130.0)	106.0 (91.0, 122.0)	116.0 (101.3, 132.0)	-6.397	< 0.001
MAP [mmHg, $M(Q_1, Q_3)$]	98.0 (88.0, 112.5)	100.0 (89.0, 114.0)	97.0 (88.0, 112.0)	-1.177	0.270
SpO ₂ [$M(Q_1, Q_3)$]	0.930 (0.900, 0.950)	0.930 (0.900, 0.950)	0.930 (0.900, 0.950)	-0.349	0.727
SCr [$\mu\text{mol/L}$, $M(Q_1, Q_3)$]	141.4 (88.4, 247.5)	132.6 (88.4, 229.8)	141.4 (88.4, 256.4)	-0.567	0.442
Hb [g/L, $M(Q_1, Q_3)$]	89.7 (79.1, 103.4)	89.9 (80.1, 103.5)	88.2 (79.5, 103.2)	-0.499	0.619
Hct [$M(Q_1, Q_3)$]	0.275 (0.246, 0.315)	0.278 (0.251, 0.318)	0.272 (0.244, 0.313)	-2.079	0.032
Na ⁺ [mmol/L, $M(Q_1, Q_3)$]	137.0 (134.0, 139.3)	138.0 (136.8, 139.3)	135.0 (133.3, 142.3)	-1.781	0.150
K ⁺ [mmol/L, $M(Q_1, Q_3)$]	4.1 (3.7, 4.4)	4.2 (3.7, 4.4)	3.8 (3.7, 4.4)	-0.519	0.390
PLT [$\times 10^9/\text{L}$, $M(Q_1, Q_3)$]	112.0 (55.0, 187.0)	135.0 (83.0, 200.0)	94.5 (45.3, 175.8)	-6.674	< 0.001
SOFA 评分[分, $M(Q_1, Q_3)$]	8 (5, 11)	7 (5, 10)	9 (6, 12)	-5.328	< 0.001
SAPS II 评分[分, $M(Q_1, Q_3)$]	48 (38, 60)	44 (36, 53)	51 (40, 63)	-7.698	< 0.001
28 d 死亡[例(%)]	576 (44.6)	166 (35.5)	410 (49.8)	24.362	< 0.001
生存时间[d, $M(Q_1, Q_3)$]	53.8 (5.7, Cens)	208.6 (10.1, Cens)	29.8 (3.8, Cens)	-6.618	< 0.001

注: 低风险组为入重症监护病房(ICU)首日有核红细胞(NRBC) $< 1\%$, 高风险组为入 ICU 首日 NRBC $\geq 1\%$; RR 为呼吸频率, HR 为心率, MAP 为平均动脉压, SpO₂ 为脉搏血氧饱和度, SCr 为血肌酐, Hb 为血红蛋白, Hct 为血细胞比容, PLT 为血小板计数, SOFA 为序贯器官衰竭评分, SAPS II 为简化急性生理学评分 II; Cens 表示截至数据库中数据收集截止时间患者仍然存活; 1 mmHg = 0.133 kPa

2.2.4 模型建立与回归分析(表 2):以 NRBC $\geq 1\%$ 为预测变量构建单因素 Logistic 回归模型或 Cox 回归模型(模型 1);基于模型 1,对年龄、性别等潜在混杂因素进行调整,建立多因素 Logistic 回归模型或 Cox 回归模型(模型 2);基于模型 2,对体质量、体温、HR、RR、MAP、SCr、SpO₂、Hb、Hct、Na⁺、K⁺、PLT 和 SOFA 评分等潜在混杂因素进行调整,建立多因素 Logistic 回归模型或 Cox 回归模型(模型 3)。

Logistic 回归和 Cox 回归分析显示,模型 1 均是脓毒症患者 28 d 死亡的独立危险因素(均 $P < 0.05$);在调整不同潜在混杂因素后,模型 2 和模型 3 同样是脓毒症患者 28 d 死亡的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。表明当 NRBC $\geq 1\%$ 时,脓毒症患者 28 d 死亡风险显著增加。

表 2 脓毒症患者 28 d 死亡独立危险因素的 Logistic 回归分析

模型	Logistic 回归分析			Cox 回归分析		
	OR 值	95%CI	P 值	HR 值	95%CI	P 值
模型 1	1.847	1.459 ~ 2.338	<0.001	1.601	1.336 ~ 1.919	<0.001
模型 2	1.648	1.280 ~ 2.122	<0.001	1.460	1.212 ~ 1.758	<0.001
模型 3	1.464	1.126 ~ 1.902	0.004	1.268	1.050 ~ 1.531	0.013

注:模型 1 为以有核红细胞(NRBC) $\geq 1\%$ 为预测变量构建的单因素 Logistic 回归模型或 Cox 回归模型;模型 2 为模型 1+年龄、性别;模型 3 为模型 2+体质量、体温、心率、呼吸频率、平均动脉压、肌酐、脉搏血氧饱和度、血红蛋白、血细胞比容、Na⁺、K⁺、血小板计数、序贯器官衰竭评分;OR 为优势比,95%CI 为 95% 置信区间,HR 为风险比

2.2.5 亚组分析与交互作用分析(表 3):对年龄、性别、体质量和 SOFA 评分进行亚组分析,以识别潜在的异质性,结果显示,在 Logistic 回归和 Cox 回归模型中,除 SOFA ≤ 4 分的患者外, NRBC $\geq 1\%$ 均是

脓毒症患者 28 d 死亡的独立危险因素(均 $P < 0.05$)。在 Logistic 回归和 Cox 回归模型中均未发现显著的交互效应(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

分析 GSE167363 数据集,在脓毒症患者外周血样本中鉴定出 NRBC 的存在,其中 NRBC 主要出现在预后不良的脓毒症患者外周血样本中。Qiu 等^[19]的研究观察到类似现象, NRBC 大量出现在入 ICU 后 1 d 内死亡的患者中。这一现象的发现促使了对 NRBC 与脓毒症患者死亡相关性的深入探讨。因此,本研究基于 MIMIC-IV 数据库提取首次入住 ICU 的脓毒症患者数据,以其入 ICU 首日 NRBC 最大值和 28 d 病死率分析早期 NRBC 水平对脓毒症患者死亡的预测价值。

在临床研究中观察到, NRBC $< 1\%$ 的脓毒症患者病死率为 35.5%,与 ICU 脓毒症患者 28 d 病死率相当^[20]。NRBC $\geq 1\%$ 的脓毒症患者 28 d 病死率显著增加至 49.8%,与脓毒性休克患者的病死率相当^[17]。这一现象更加凸显了关注 NRBC 指标与 NRBC $\geq 1\%$ 阈值在预测脓毒症患者预后层面的重要性。

本研究通过 Logistic 和 Cox 回归模型,进一步确认了 NRBC $\geq 1\%$ 是脓毒症患者 28 d 死亡的独立预测因素,且与先前的研究结果一致。例如:Stachon 等^[21]的研究指出,成人患者外周血中检测到 NRBC 意味着预后不良。Desai 等^[7]对 275 例外科脓毒症患者进行了回顾性分析,发现任何时间点检测到 NRBC 及 NRBC 水平升高均提示较高的 ICU 和住院病死率。Narci 等^[6]的研究也指出,入院时 NRBC 水平升高是急诊患者全因病死率增加的独立风险

表 3 NRBC $\geq 1\%$ 的 Logistic 回归模型或 Cox 回归模型影响脓毒症患者 28 d 死亡的亚组分析和交互作用分析

指标	例数 (例)	28 d 死亡 (例)	Logistic 回归模型			交互 P 值	Cox 回归模型			交互 P 值
			OR 值	95%CI	P 值		HR 值	95%CI	P 值	
年龄						0.460				0.596
≤67.1 岁	644	259	1.631	1.163 ~ 2.287	0.005		1.478	1.129 ~ 1.935	0.005	
>67.1 岁	647	317	2.013	1.454 ~ 2.787	<0.001		1.681	1.319 ~ 2.143	<0.001	
性别						0.255				0.201
男性	703	313	1.587	1.158 ~ 2.174	0.004		1.408	1.106 ~ 1.794	0.005	
女性	588	263	2.084	1.471 ~ 2.953	<0.001		1.791	1.365 ~ 2.349	<0.001	
体质量 ^a						0.629				0.792
≤80 kg	643	300	1.994	1.431 ~ 2.779	<0.001		1.661	1.288 ~ 2.141	<0.001	
>80 kg	611	264	1.517	1.166 ~ 1.972	0.002		1.649	1.114 ~ 2.464	0.014	
SOFA 评分						0.682				0.166
≤4 分	736	271	1.216	0.632 ~ 2.337	0.558		1.250	0.694 ~ 2.252	0.458	
>4 分	555	305	1.662	1.229 ~ 2.127	<0.001		1.554	1.285 ~ 1.879	<0.001	

注:NRBC 为有核红细胞,SOFA 为序贯器官衰竭评分,OR 为优势比,95%CI 为 95% 置信区间,HR 为风险比;体质量^a 为部分数据缺失

因素。

本研究进行亚组分析以探讨 NRBC $\geq 1\%$ 在不同患者群体中作为 28 d 死亡预测因子的适用性,结果显示, NRBC $\geq 1\%$ 的预测价值在大多数患者群体中是一致的,且未发现显著的交互作用。

本研究的组学分析部分存在一定局限性,包括样本量较小且所有脓毒症患者均为革兰阴性菌感染。未来需要收集更多不同感染类型的患者样本,以充分验证本研究结果。此外,相关的机制研究应继续被挖掘,以帮助更好地理解脓毒症发生发展过程中的机制。

本研究临床数据分析部分可能存在一定的选择偏倚。为此,我们搜索了其他大型数据库,如临床重症监护公共数据库^[22]和萨尔茨堡重症监护数据库^[23],但未在其中发现 NRBC 相关数据的收集。这进一步强调了: NRBC 作为一种易于获取且低成本的指标往往被忽视。考虑到选择偏倚的可能性,在未来需开展前瞻性研究,以在更广泛和多样的患者人群中验证本研究的结果,确保结果的普遍性。此外,收集纵向队列数据,以探索 NRBC 轨迹与患者结局之间的相关性。

综上,本研究结果表明,入院首日 NRBC $\geq 1\%$ 是脓毒症患者 28 d 死亡风险的独立危险因素,这一阈值的确立为临床实践中快速评估脓毒症患者死亡风险提供了一个实用的指标。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 陈昊然: 论文选题、研究设计、数据采集、数据整理、统计学分析、论文撰写; 颜瑶、李小民: 研究指导、统计学分析; 唐心怡、薛皓月: 论文撰写、论文修改; 谢永鹏: 基金获取、研究指导、论文修改

参考文献

- [1] Nandakumar SK, Ulirsch JC, Sankaran VG. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives [J]. *Br J Haematol*, 2016, 173 (2): 206–218. DOI: 10.1111/bjh.13938.
- [2] Schwartz SO, Stansbury F. Significance of nucleated red blood cells in peripheral blood: analysis of 1 496 cases [J]. *J Am Med Assoc*, 1954, 154 (16): 1339–1340. DOI: 10.1001/jama.1954.02940500019007.
- [3] Hwang DH, Dorfman DM, Hwang DG, et al. Automated nucleated RBC measurement using the Sysmex XE-5000 hematology analyzer: frequency and clinical significance of the nucleated RBCs [J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145 (3): 379–384. DOI: 10.1093/ajcp/aqv084.
- [4] Markwart R, Saito H, Harder T, et al. Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: a systematic review and meta-analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46 (8): 1536–1551. DOI: 10.1007/s00134-020-06106-2.
- [5] ICON Investigators. Sepsis in intensive care unit patients: worldwide data from the intensive care over nations audit [J]. *Open Forum Infect Dis*, 2018, 5 (12): ofy313. DOI: 10.1093/ofid/ofy313.
- [6] Narci H, Oktay MM, Aynk C, et al. Nucleated red blood cells as predictor of all-cause mortality in emergency department [J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 46: 335–338. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.10.002.
- [7] Desai S, Jones SL, Turner KL, et al. Nucleated red blood cells are associated with a higher mortality rate in patients with surgical sepsis [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2012, 13 (6): 360–365. DOI: 10.1089/sur.2011.089.
- [8] Stachon A, Segbers E, Holland-Letz T, et al. Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study [J]. *Crit Care*, 2007, 11 (3): R62. DOI: 10.1186/cc5932.
- [9] Li HD, Tu QQ, Feng K, et al. Nucleated red blood cells as a novel biomarker in the diagnosis and prediction of sepsis severity in children [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1264607. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1264607.
- [10] Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, et al. Nucleated red blood cells are a direct response to mediators of inflammation in newborns with early-onset neonatal sepsis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 198 (4): 426. e1–9. DOI: 10.1016/j.ajog.2008.01.040. Erratum in: *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 198 (6): 728.
- [11] Stachon A, Kempf R, Holland-Letz T, et al. Daily monitoring of nucleated red blood cells in the blood of surgical intensive care patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 366 (1–2): 329–335. DOI: 10.1016/j.cca.2005.11.022.
- [12] Schmidt G, Martens A, Koch C, et al. Nucleated red blood cells are a late biomarker in predicting intensive care unit mortality in patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome: an observational cohort study [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1313977. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1313977.
- [13] Menk M, Giebelhäuser L, Vorderwülbecke G, et al. Nucleated red blood cells as predictors of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study [J]. *Ann Intensive Care*, 2018, 8 (1): 42. DOI: 10.1186/s13613-018-0387-5.
- [14] Shah R, Reddy S, Horst HM, et al. Getting back to zero with nucleated red blood cells: following trends is not necessarily a bad thing [J]. *Am J Surg*, 2012, 203 (3): 343–345; discussion 345–346. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.10.002.
- [15] Slovin S, Carissimo A, Panariello F, et al. Single-cell RNA sequencing analysis: a step-by-step overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2284: 343–365. DOI: 10.1007/978-1-0716-1307-8_19.
- [16] Hu CX, Li TY, Xu YQ, et al. CellMarker 2.0: an updated database of manually curated cell markers in human/mouse and web tools based on scRNA-seq data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51 (D1): D870–D876. DOI: 10.1093/nar/gkac947.
- [17] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [18] Lee KJ, Simpson JA. Introduction to multiple imputation for dealing with missing data [J]. *Respirology*, 2014, 19 (2): 162–167. DOI: 10.1111/resp.12226.
- [19] Qiu XR, Li J, Bonenfant J, et al. Dynamic changes in human single-cell transcriptional signatures during fatal sepsis [J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110 (6): 1253–1268. DOI: 10.1002/JLB.5MA0721-825R.
- [20] Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, et al. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019—results from a systematic review and meta-analysis [J]. *Crit Care*, 2020, 24 (1): 239. DOI: 10.1186/s13054-020-02950-2.
- [21] Stachon A, Holland-Letz T, Krieg M. High in-hospital mortality of intensive care patients with nucleated red blood cells in blood [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2004, 42 (8): 933–938. DOI: 10.1515/CCLM.2004.151.
- [22] Pollard TJ, Johnson AEW, Raffa JD, et al. The eICU Collaborative Research Database, a freely available multi-center database for critical care research [J]. *Sci Data*, 2018, 5: 180178. DOI: 10.1038/sdata.2018.178.
- [23] Goldberger AL, Amaral LA, Glass L, et al. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: components of a new research resource for complex physiologic signals [J]. *Circulation*, 2000, 101 (23): E215–E220. DOI: 10.1161/01.cir.101.23.e215.

(收稿日期: 2024-11-07)

(本文编辑: 保健媛 马英)